

Aus der Hautklinik der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz
Direktor: Professor Dr. G. W. Korting

**Der histologische Verlauf der UV-lichtbedingten
Ohrnekrose der weißen Maus und der Versuch ihrer
Beeinflussung durch einen Glykopeptidkomplex aus
Citrusfrüchten**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Josef Metzner
Heidelberg

1973



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Hautklinik der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz
Direktor: Professor Dr. G. W. Korting

**Der histologische Verlauf der UV-lichtbedingten
Ohrnekrose der weißen Maus und der Versuch ihrer
Beeinflussung durch einen Glykopeptidkomplex aus
Citrusfrüchten**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Josef Metzner
Heidelberg

Referent : Professor Dr.med. F. Nürnberger

Korreferent : Professor Dr.med. H.J. Stolpmann

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am : 10.5.1973



Meiner Frau Brita gewidmet

I.	Problemstellung	1
II.	Kurzer geschichtlicher Rückblick	3
III.	Theoretische Grundlagen	4
IV.	Experimentelle Untersuchungen	
	A. Material und Methode	7
	1. Versuchstiere, ihre Haltung und Vorbereitung	7
	2. Strahlenquelle und Versuchsanordnung	8
	3. GPK-c, seine Wirksamkeit und Toxizität	8
	4. Konzentration, Dosierung und Applikationsart	10
	B. Versuche	
	1. Erythemschwellenbestimmung	11
	2. Bestimmung der optimalen Bestrah- lungsdauer zur Erzeugung der Ohr- und Hautnekrosen	12
	3. Hauptversuch	13
	C. Histologische Methoden	
	1. Gewinnung der anatomischen Präparate	14
	2. Herstellung der histologischen Präparate	15
V.	Makroskopischer Ablauf der Ohrnekrose	15
VI.	Normale Histologie der Ohrmuschel der weißen Maus	16
VII.	Auswertung des Hauptversuchs	19
	1. Beurteilung der histologischen Präparate	19
	2. Die Entwicklung der Ohrnekrose (Zusammenfassung)	35
	3. Der Unterschied im Ablauf der Ohrnekrose bei den mit GPK-c behandelten Versuchs- tieren	38
VIII.	Diskussion der Ergebnisse	39
IX.	Zusammenfassung	41
X.	Bildtafeln	42
XI.	Literaturverzeichnis	47

I. Problemstellung

PATT und VOGEL entwickelten 1965 ein Verfahren zur Gewinnung eines antiinflammatorisch wirksamen Produktes aus Citrusfrüchten (1). Diese neue Substanz, ein Glykopeptidkomplex aus Citrusfrüchten (GPK-c), wurde 1967 von der pharmazeutischen Firma Dr. Madaus & Co. (Köln-Merheim) zur klinischen Prüfung an die Universitäts-Hautklinik Mainz gegeben.

Das trockene Produkt GPK-c zeigte in verschiedenen Tests eine hohe antiinflammatorische Wirksamkeit. Es hemmte z.B. die Rattenpfoten-Ödeme nach intraplantarer Zufuhr von Histamin, Serotonin, Kaolin, Formalin und Bradykinin (1). Die Kapillarpermeabilität, geprüft am Verhalten des sogenannten Polyvinylpyrrolidon-Ödems (35) der Ratte und an dem Übertritt von Flüssigkeit und Polyvinylpyrrolidon aus dem Plasma in der Lymphe von Ratten (34) ergab eine "Abdichtung" der Kapillarmembranen für Wasser und für Makromoleküle. Die durch Histamin bzw. physiologisch aktive Polypeptide wie Bradykinin und Kallidin gesteigerte Kapillarpermeabilität wurde durch das erfindungsgemäße Produkt wieder normalisiert (1).

NÜRNBERGER (24) beobachtete, besonders bei Lichtdermatosen, eine erstaunlich gute Lichtschutzwirkung, als GPK-c-Dragees bei 20 männlichen und weiblichen Patienten mit verschiedenen Lichtdermatosen, Lupus erythematosus subacutus und chronicus, Purpura und Status varicosus geprüft wurden. SEYFEDDINIPUR (31) prüfte daraufhin am Menschen den möglichen Schutzeffekt des GPK-c mit Hilfe der Erythemschwellenbestimmung. NAWRATH (23), RUMPF (28) und WIEDEMANN (38) untersuchten diesen Schutzeffekt in Tierversuchen, indem sie als

Versuchsmodell die letale Photosensibilisierung von weißen Mäusen durch innerlich verabreichtes Hämatoporphyrin und dessen photodynamische Wirkung bei Ultraviolettbestrahlung benutzten. Eine Verminderung der Todesrate von sensibilisierten Tieren sollte als Wirkung der prophylaktisch verabreichten Substanz angesehen werden. Bei diesen Versuchen ergab sich folgender Zufallsbefund : Die nichtsensibilisierten Kontrolltiere, die ebenfalls einer halbstündigen UV-Bestrahlung aus einer Bestrahlungsentfernung von nur 40 cm ausgesetzt waren, zeigten nach einigen Tagen eine Schädigung ihrer Ohrmuscheln, die über eine starke Rötung, ödematöse Schwellung und lamellöse Schuppung in einer die ganze Ohrmuschel erfassenden Nekrose resultierte. GÖDAN (10) versuchte makroskopisch Gesetzmäßigkeiten im zeitlichen Ablauf dieser UV-Schädigung festzustellen und jederzeit reproduzierbare, in Abhängigkeit von der Bestrahlungsdosis verschieden ausgedehnte Ohrnekrosen an weißen Mäusen zu erzielen. Außerdem prüfte sie an diesem Versuchsmodell die Lichtschutzwirkung des GPK-c auf seinen prophylaktischen und therapeutischen Effekt, indem eine Verhinderung oder zumindest Abschwächung der Ohrnekrose als Maßstab für die Wirksamkeit dieser Substanz angesehen werden sollte.

Mehrere Forscher haben die Mäuseohren für Versuche mit UV-Strahlen benutzt (9, 32, 37). 1911 wurde die Ohrnekrose bereits von HAUSMANN (13) als Versuchsmodell angewandt, als er die sensibilisierende Wirkung des Hämatoporphyrin-s untersuchte. BRILL (5) hat 1950 in Anlehnung an die Versuche von HAUSMANN die Verhinderung von Ohrnekrosen bei mit Hämatoporphyrin gegen Licht sensibilisierten weißen Mäusen untersucht. BRETT (4) gab jedoch in seinem "Beitrag zur internen Therapie der Lichtdermatosen und lichtbeeinflussbaren Krankheiten" zu bedenken, daß zur Prüfung der lichtabschwächenden Wirkung von Substanzen an sensibilisierten Tieren der Lichtchocktod

und seine Verhinderung als Kriterien unzuverlässige Werte liefern. Nach seiner Erfahrung belasten die notwendigen Dosen der lichtsensibilisierenden und -desensibilisierenden Stoffe das Tier schwer in seinen Lebensfunktionen. Die von GÖDAN (10) erarbeiteten Grundlagen zur Erzeugung von Ultraviolettsschäden bei nicht sensibilisierten weißen Mäusen, ihre mögliche Abstufung in Abhängigkeit von der Bestrahlungsgröße, ergeben die notwendigen Voraussetzungen für ein neues, leicht praktikierbares Versuchsmodell.

Meine Arbeit soll erstens dazu dienen, durch die Beschreibung des histologischen Ablaufs der UV-Licht-bedingten Ohrnekrose die von GÖDAN (10) gegebenen Grundlagen zu einem neuen Versuchsmodell zu erweitern, und zweitens im Rahmen der klinischen Prüfung von GPK-c durch eine histologische Untersuchung der Ohrnekrose der nicht sensibilisierten weißen Maus eventuell auftretende Unterschiede im Verlauf der UV-lichtbedingten Entzündung zwischen unbehandelten und behandelten Versuchstieren zu ermitteln.

Die im Folgenden beschriebenen Tierexperimente wurden zusammen mit Herrn cand.med. R. WÜNSTEL (41) durchgeführt, der an denselben Versuchstieren die akute Lichtentzündung an der Rückenhaut und ihre Beeinflussung durch GPK-c untersuchte.

II. Kurzer geschichtlicher Rückblick

Als erster Arzt brachte WILLIAN, der 1798 das Ekzema solare schon kannte, gewisse Hauterscheinungen mit der Lichteinwirkung in Zusammenhang, ebenso RAYER 1835 (26). 1801 wurden von J.W. RITTER die UV-Strahlen entdeckt (18), 1861 beschrieb BAZIN die Hydroa vaccini-forme, die HUTCHINSON 1878 als

Prurigo aestivalis bezeichnete (22). Für das Ekzema solare bewiesen Th. VEIEL 1887 (33), UNNA 1890 und WOLTERS 1891 (40) die Wirkung des Lichtes als ätiologischen Faktor. FINSSEN erkannte die Bedeutung der kurzwelligen UV-Strahlen als Träger der Lichtwirkung (19). Diese Erkenntnis wurde von HAUSSER und VAHLE vertieft, indem sie nachwiesen, daß der erythemerzeugende Wellenbereich zwischen 310 und 280 nm liegt (19). In neuerer Zeit haben vor allem MIESCHER (19, 20, 21), DANIELS (7), SAMS und SMITH (29) histologische und histochemische Veränderungen bei Strahlenschäden der Haut beschrieben.

III. Theoretische Grundlagen

Die Grundlagen unserer Vorstellungen über das Zustandekommen der lichtbedingten Phänomene verdanken wir HAUSSER und VAHLE (14) durch ihre Untersuchungen über die erythemerzeugenden Eigenschaften der ultravioletten Strahlen und durch die von ihnen ermittelte spektrale Erythemkurve, welche Wirkungsmaxima im mittel- und kurzwelligen UV-Bereich bei 2170 Å und 2500 Å und im langwelligen UV-Bereich bei 3850 Å aufweist.

Die erste makroskopisch sichtbare Antwort der Haut auf UV-Strahlen ist ein Erythem. Nach ROST und KELLER (27) haben kapillaroskopische Untersuchungen gezeigt, daß während dieser Reaktion die Papillarkapillaren erweitert und in vermehrter Zahl beteiligt sind. Die Rötung ist jedoch hauptsächlich durch den stark dilatierten subpapillären Plexus bedingt. Das Erythem tritt nicht sofort unter der Bestrahlung auf, sondern erst nach einer Latenzzeit bis zu 3 Stunden. Seine Stärke ist wellenlängen- und dosisabhängig und erreicht ihr Maximum zwischen 12 und 24 Stunden (27).

Die geringste Strahlendosis eines UV-Strahlers, die nach 24 Stunden ein gerade noch von der Umgebung scharf abgrenzbares Hauterythem erzeugt, bezeichnet man übereinkunftsgemäß als Erythemschwelle. Die Erythemschwellenbestimmung wurde von zahlreichen Lichtforschern (z.B. 8, 16, 40) besonders für Tests an Menschen verwandt, um meßbare und vergleichbare Kriterien der UV-Entzündung zu erhalten. Hemmung, Verzögerung oder Schwächung des Erythems und Änderung der Erythemschwelle werden z.B. als Zeichen der Lichtschutzwirkung von Medikamenten angesehen. Der Vorteil dieses Versuchsmodells liegt in der kurzen Reaktionskette vom Einwirken der Noxe bis zum Auftreten der Schädigung (30). Der Nachteil der Methode beruht in der Ungenauigkeit der Farbvergleiche, bedingt durch die subjektive Beurteilung der Hautreaktion und der Verschiedenheit der Hautfarbe.

Da nach dem Gesetz von GROTHUS nur der absorbierte Teil der Strahlung biologisch wirksam werden kann, sind die Untersuchungen von BACHEM (3) über die Absorption von Strahlen der einzelnen Wellenlängenbereiche in den Schichten der menschlichen Haut von großer Bedeutung. Er stellte fest, daß Strahlen unterhalb 3 000 Å zu 90% im Stratum corneum und Malpighi der Epidermis teils reflektiert, teils absorbiert werden. Nur 10% dieser Strahlen dringt zunehmend in die Tiefe der Haut, was ja letztlich bei der Infrarot-Bestrahlung gewünscht ist. Allerdings läßt die biologische Wirksamkeit mit zunehmender Wellenlänge nach.

Die biologische Wirksamkeit der UV-Strahlen wurde von MEYER und SEITZ (18) erstens als allgemeine Wirkung destruktiver Art und zweitens als spezifische Wirkung photometrischer Art charakterisiert. Durch die destruktive Wirkung werden lebende Zellen geschädigt und abgetötet, wobei wahrscheinlich die grundlegenden Vorgänge die Denaturierung der Eiweißkörper

des Protoplasmas und des Zellkerns sind. KNAPP (17) zeigte in seinen Untersuchungen, daß wahrscheinlich der Angriffspunkt der UV-Strahlen die Nukleinsäuren des Zellkerns sind, und daß beim Zellzerfall biochemisch aktive, pharmakologisch wirksame Zerfallsprodukte entstehen und zu verschiedenartigen physiologischen Reaktionen führen können (18).

MIESCHER (20) hat die lichtbedingten Phänomene histologisch untersucht und bei verschiedenen Spektralbereichen unterschiedliche Reaktionen gesehen. Er unterscheidet außer dem klassischen UV-Erythem 4 Kategorien von lichtbedingten Reaktionen :

1. Reaktion auf langwelliges UV.
2. Reaktionen auf sichtbare und infrarote Strahlen.
3. Reaktion bei Gegenwart photodynamischer Katalysatoren.
4. Photoallergische Reaktionen.

Die Histologie des klassischen UV-Erythems ist gekennzeichnet durch einen parallel mit der Strahlendosis von oberflächlichen zu tieferen Schichten der Epidermis zunehmenden Zellschaden, der sich in einer Vakuolisierung des Protoplasmas, Abnahme der Anfärbbarkeit von Kern und Protoplasma und letztlich im scholligen Zerfall der Zellen ausdrückt. Bei entsprechend starker Strahlendosis ergreift die Schädigung die gesamte Epidermis, und es kann zum Untergang von Endothelzellen der subepithelialen Kapillaren und von Fibroblasten der Cutis kommen. Ferner erkennt man Gefäßerweiterung, ein interstitielles Ödem und Leukozyteninfiltration in der Cutis (20).

Die Histologie der Reaktion auf langwelligen UV ist gekennzeichnet durch eine fast völlige Nichtbeteiligung der Epidermis. Dagegen spielt sich die Hauptreaktion in der Cutis

ab, erkennbar an einem ausgeprägten Ödem, an der starken Erweiterung der subepithelialen Kapillaren und deren nicht mehr erkennbaren Endothelauskleidung. Man erkennt pyknotische Endothelzellkerne und Fibroblastenkerne. Nach MIESCHER (20) weisen das Kollagen und die elastischen Fasern keinerlei Zeichen von Schädigung auf.

IV. Experimentelle Untersuchungen

A. Material und Methode

1. Versuchstiere, ihre Haltung und Vorbereitung

Als Versuchstiere wählten wir wegen der einfachen Möglichkeit der Tierhaltung 120 Albinomäuse aus einem Stamm. Wir bevorzugten männliche Tiere mit einem Lebendgewicht von 21 - 23 Gramm.

Für alle Versuchstiere waren die Lebensbedingungen die gleichen : Die Tierkäfige befanden sich in einem belüfteten Kellerraum. Tagsüber sorgten Leuchtstoffröhren für das erforderliche Licht. Als Nahrungsmittel dienten ein Spezialfutter aus Altroggen (Altromin von Altroggen-Spezialfutterwerk, Lage/Lippe) und Leitungswasser. Die Versuche wurden innerhalb von 4 Wochen (im Dezember 1968) ausgeführt, um evtl. mögliche jahreszeitlich bedingte Änderungen der Abwehrlage der Organismen der Versuchstiere als Unsicherheitsfaktor auszuschließen.

Zur Bestimmung der Erythemschwellendosis und zur Bestrahlung der Rückenhaut (41) war es erforderlich, auf den Rücken der Versuchstiere die Haare zu entfernen, um eine entsprechende Strahlendosis an den gewünschten Wirkungsort

bringen zu können. Obwohl BABUCKE (2) keinen Unterschied in der Hautreaktion zwischen rasierten und mit Enthaarungsmittel behandelten Versuchstieren nachweisen konnte, entschieden wir uns dennoch vorsorglich für die Rasur, um jede Beeinträchtigung der Bestrahlung durch den vorhandenen Cremefilm und eine evtl. pharmakologische Wirkung der darin enthaltenen Substanzen auf das Erythem und die Nekrosebildung zu vermeiden. Die Rücken der Versuchstiere ließen sich am besten mit einem elektrischen Rasierapparat der Firma Braun (Braun Sixtant) rasieren, so daß auch der zarteste Flaum entfernt werden konnte, ohne die Rückenhaut übermäßig zu reizen oder gar zu verletzen. Es wurde auf jedem Mäuserücken ein mindestens 1 cm^2 großes Hautstück freigelegt.

2. Strahlenquelle

Wir verwendeten einen Quecksilber-Hochdruckbrenner vom Typ Q 600 der Quarlampengesellschaft Hanau mit einem Emissionsspektrum von $2250 \text{ \AA}$ bis $5850 \text{ \AA}$ (10). Die biologische Wirksamkeit dieses Spektrums liegt bei den Wellenlängenbereichen von $2500 \text{ \AA}$ und $3100 \text{ \AA}$, bedingt durch deren große relative Intensitäten (10) und der von HAUSSER und VAHLE (14) ermittelten Erythemwirksamkeitskurve, deren Gradation von $2500 - 3150 \text{ \AA}$ zunehmend steiler wird.

3. Glykopeptidkomplex aus Citrusfrüchten (GPK-c), seine Wirksamkeit und Toxizität

In Citrus-Früchten kommen zahlreiche Inhaltsstoffe vor, die spezifische pharmakologische Wirkungen entfalten, z.B. Vitamine, Provitamine und Flavonoide. Letztere bezeichnete A. SZENTGYORGYI (Nature London, 138, 27 (1936)) als "Permeabilitäts-

vitamine". Neuere Untersuchungen haben ergeben, daß in den Citrusarten eine antiinflammatorisch wirksame Fraktion nachgewiesen werden kann, die nicht identisch ist mit den Stoffen der Flavonoidreihe (1). Bei dieser Fraktion soll es sich um einen Glykopeptidkomplex handeln, der sich hydrolytisch und enzymatisch in Zucker und Aminosäuren spalten läßt (38).

Wie bereits eingangs erwähnt, zeigte GPK-c in einer Reihe von Tests eine hohe antiinflammatorische Wirksamkeit. Die Deff 30% (jene Dosis, die an einem ausreichend großen Kollektiv von Versuchstieren eine mittlere Ödemhemmung von 30% bewirkt) beträgt am Ovalbumin-Ödem der Rattenpfote = 1 mg/kg bei i.v. Applikation. Im Vergleich dazu hemmt das bekannte Antiphlogistikum Phenylbutazon das Ovalbuminödem von Ratten lediglich in einer Dosis von 60 mg/kg (1). Ferner wird die Kapillarresistenz der Vitamin-P-arm ernährten Ratte durch GPK-c gesteigert. Die durch Histamin und andere physiologisch aktive Polypeptide wie Bradykinin und Kallidin gesteigerte Kapillarpermeabilität wird durch GPK-c wieder normalisiert. GPK-c vermag in Dosen von 0,5 bis 2,5 mg/0,5 ml Herz am isolierten Meerschweinchenherzen nach LANGEN-DORFF die koronare Perfusion um mehr als 60% zu steigern (1).

Untersuchungen der Firma Dr. Madaus & Co. (Köln-Merheim) über die Verträglichkeit von GPK-c ergaben, daß Ratten bei intravenöser Gabe 0,5 mg vertragen (38). Eine Dosierung bis zu 100 mg/kg i.v. bewirkt an der Katze keine merkliche Blutdruckreaktion am arteriellen System (1). Durch Untersuchungen von NAWRATH (23), RUMPF (28) und WIEDEMANN (38) konnte gezeigt werden, daß weiße Mäuse die intraperitoneale Applikation von 10 mg GPK-c vertragen, entsprechend einer Dosis von 0,5 mg/g. Diese Dosierung wurde in Kontrollversuchen von dunkelgehaltenen Tieren gut vertragen. Ebenso zeigte sich

bei Lichtexposition eine gute Verträglichkeit (38). 20 Mäuse zwischen 25 und 30 g erhielten von GÖDAN (10) je nach Gewicht berechnete GPK-c-Lösung mit einer Konzentration von 0,8 mg/ml intravenös appliziert. Die Beobachtung während der folgenden 5 Tage ergab keine krankhaften Veränderungen in Aussehen und Verhalten der Versuchstiere. Als NÜRNBERGER bei 20 männlichen und weiblichen Patienten mit verschiedenen Lichtdermatosen, Lupus erythematosus subacutus und chronicus, Purpura und Status varicosus GPK-c-Dragees prüfte, beurteilte er Wirkung und Verträglichkeit mit gut bis sehr gut (24).

4. Konzentration, Dosierung und Applikationsart

Das von GÖDAN (10) beschriebene Verfahren zur Herstellung von GPK-c-Lösung ermöglicht die optimale Konzentration von 0,8 mg/ml. Als Lösungsmittel wurde eine Phosphatpufferlösung mit einem pH von 7,5 verwandt. Als therapeutisch günstigste Dosierung ermittelte GÖDAN (10) den Wert von 20 mg/kg, das entspricht 0,2 mg/g Körpergewicht.

Wir gaben die 1. Injektion 1 Stunde vor der Bestrahlung, die 2., 3. und 4. Injektion erfolgten 24, 48 und 72 Stunden nach der Bestrahlung.

Wegen der verzögerten Resorption und dem langsameren Wirkungsanstieg bei peritonealer Applikation (23) entschlossen wir uns entsprechend den Versuchen von GÖDAN (10) zur intravenösen Applikation. Sie erfolgte in eine durch lauwarm angewärmtes Wasser dilatierte Schwanzvene des Versuchstieres mit Hilfe einer Tuberkulinspritze und einer entsprechend

dünnen Kanüle. Um ein Stillhalten des Versuchstieres zu erzwingen, wurde es Kopf voraus in einen 8 cm langen und 3 cm dicken Plastikzylinder gesteckt. Auf der einen Seite war der Zylinder durch einen zur Luftversorgung der Maus durchlöchernten Plastikdeckel fest verschlossen. Die andere Seite war abnehmbar und versehen mit einem einfachen Verschlußmechanismus und einer zentralen Bohrung, durch die man den Schwanz des Versuchstieres führte. Dieses Gerät wurde im Pharmakologischen Institut der Universität Mainz (Direktor : Professor Dr. G. KUSCHINSKY) entwickelt und uns freundlicherweise für unsere Versuche zur Verfügung gestellt.

B. Versuche

1. Erythemschwellenbestimmung

Wir bestimmten die Erythemschwelle, um für spätere Versuche eine Vergleichsmöglichkeit zu schaffen, die nicht nur die Strahlungsintensität der UV-Lampe, sondern auch die biologische Reaktionsbereitschaft der Versuchstiere berücksichtigt. Zu diesem Zweck rasierten wir fünf Mäusen den Rücken nahezu vollständig. Dann stanzen wir mit Hilfe eines Lochers in eine lichtundurchlässige Plastikfolie sechs gleich große runde Löcher. Während der Bestrahlung aus einer Entfernung von 40 cm mit dem oben beschriebenen Bestrahlungsgerät Q 600 hielten wir die jeweils betroffene Maus so an Schwanz und Nacken, daß der geschorene Rücken unter die sechs Öffnungen zu liegen kam und das Versuchstier sich nicht bewegen konnte. Nach jeweils 30 Sekunden wurde eine Öffnung nach der anderen abgedeckt. Hiermit erhielten wir Bestrahlungszeiten von 30, 60, 90, 120, 150 und 180 Sekunden. Die Auswertung ergab entsprechend den Bedingungen von ROST

und KELLER (27) und MEYER und SEITZ (18) nach 24 Stunden bei 4 Mäusen ein deutlich abgrenzbares Erythem bei der Bestrahlungsdauer von 90 Sekunden und länger. Das 5. Versuchstier zeigte erst von 120 Sekunden Bestrahlungsdauer an aufwärts ein gegen die Umgebung deutlich abgrenzbares Erythem. Entsprechend der Definition der Erythemschwelle des UV-Lichts ergab sich hiermit ein Wert von 90 Sekunden.

2. Bestimmung der optimalen Bestrahlungsdauer zur Erzeugung der Ohr- und Hautnekrosen

Da WÜNSTEL (41) zusammen mit mir die gleichen Versuchstiere benutzte, galt es zunächst festzustellen, welche Strahlendosis geeignet war, zuverlässig eine Hautnekrose und eine Ohrnekrose zu erzeugen. Wir bestrahlten daher sechs Gruppen von Mäusen 10, 15, 20, 25, 30 und 35 Minuten lang. Allen Versuchstieren wurde ein etwa 1 cm^2 großes Hautstück auf dem Rücken freirasiert und anschließend die Füße zusammengebunden, da nach den Erfahrungen von GÖDAN (10) die äußerst lebhaften Tiere während der Bestrahlung versuchten, aus dem 30 cm hohen Glasgefäß zu springen. Dies brachte die betreffenden Tiere in unmittelbare Nähe des Brenners und stellte somit die Einheitlichkeit der Strahlendosis in Frage. Zwei Tiere starben während der Bestrahlung (1 aus der 25-Minuten-Gruppe, 1 aus der 35-Minuten-Gruppe), zwei weitere Tiere starben nach der Bestrahlung (1 aus der 15-Minuten-Gruppe, 1 aus der 35-Minuten-Gruppe). Wir beobachteten die Tiere 8 Tage lang. Am 9. Tag wurden sie durch Dekapitation getötet. Bei allen Versuchstieren zeigten die Ohrmuscheln nekrotische Veränderungen, die entsprechend den Definitionen von GÖDAN (10) von der $1/3$ Nekrose bei 10-minütiger Bestrahlung bis zur $2/3$ ja sogar $3/4$ Nekrose bei 35-minütiger Bestrahlung reichten. Die nekrotisierten Ohrbereiche waren

zwar noch nicht endgültig abgestoßen, doch war der Entwicklung in den vorangegangenen Tagen abzulesen, daß die Nekrosen sich nicht mehr vergrößern würden. WÜNSTEL (41) stellte zur Klärung des Ausmaßes der UV-Schädigung histologische Präparate her, um an der Rückenhaut beurteilen zu können, wie tief die Veränderungen in die Hautschichten eingedrungen waren. Das Resultat seiner Untersuchungen ergab, daß erst bei 30-minütiger Bestrahlungsdauer eine bis in das Corium reichende Schädigung der Rückenhaut bei 60% der Versuchstiere erreicht wurde. Bei dieser Bestrahlungsdauer hatten 4 Tiere eine $\frac{2}{3}$ Nekrose, 1 Tier eine $\frac{1}{2}$ Nekrose der Ohrmuschel. WÜNSTEL (41) gibt ferner an, daß bei den 10 und 15 Minuten bestrahlten Mäusen keine Rückenhautnekrosen histologisch zu erkennen waren, während, in Übereinstimmung mit den Angaben von GÖDAN (10), bei dieser Bestrahlungsdauer $\frac{1}{3}$ und $\frac{1}{2}$ Nekrosen der Ohrmuscheln auftraten. Diese Reaktionsunterschiede bei denselben Versuchstieren zeigen meiner Meinung nach deutlich eine wesentlich empfindlichere Reaktion der Ohrmuscheln gegenüber der Rückenhaut. Da bei WÜNSTEL (41) die Beeinflußbarkeit der Hautnekrosen durch GPK-c im Vordergrund stand, in meiner Arbeit aber das Hauptgewicht auf dem histologischen Ablauf der Ohrnekrose liegt, bot sich als günstigste Strahlendosis eine Bestrahlungsdauer von 30 Minuten an. Diese Bestrahlungsdauer ist jedoch nach GÖDAN (10) für eine medikamentöse Beeinflussung der Ohrnekrose durch GPK-c zu hoch.

3. Hauptversuch

Um einen möglichst vollständigen Ablauf der Entstehung der Ohrnekrose zu erhalten, stellten wir folgenden Zeitplan auf :
Nach 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 18, 21, 24, 30 und 36 Stunden,

nach 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21 und 23 Tagen wurde je 1 Gruppe von 4 Versuchstieren getötet. Jede Gruppe bestand aus 2 behandelten und 2 unbehandelten Tieren. Alle vier Tiere einer Gruppe wurden gleichzeitig bestrahlt. Die Bestrahlungsdauer betrug entsprechend unseren Vorversuchen 30 Minuten, das ist die 20-fache Erythemschwellendosis. Den rasch eintretenden Vorgängen im Gewebe nach Einwirkung der Noxe und den etwas langsameren Ereignissen bei der Regeneration des Gewebes versuchten wir auf diese Weise den Zeitplan parallel zu staffeln, indem wir die Lebenszeiträume für die ersten Gruppen relativ kurz wählten und gegen den Zeitpunkt der Abheilung der Nekrose länger werden ließen. 25 Versuchstiere starben teils während der Bestrahlung, teils danach, davon waren 14 Tiere behandelt. Wenn in einer Gruppe von 4 Mäusen, die zusammen bestrahlt wurden und denen die gleiche Lebensfrist zugeordnet war, ein Tier gestorben war, wurde erneut eine Gruppe von 4 Mäusen bestrahlt, damit gewährleistet war, daß die behandelten und unbehandelten Tiere einer Gruppe unter gleichen Bedingungen bestrahlt und später getötet wurden.

C. Histologische Methoden

1. Ohrmuschel der anatomischen Präparate

Zur Herstellung der anatomischen Präparate wurden unmittelbar nach der Tötung der Versuchstiere die Ohrmuscheln durch einen zirkulären Schnitt von der Kopfhaut getrennt. Dann wurde der knorpelige Teil des Gehörgangs möglichst nahe an seinem Übergang zum knöchernen Teil durchtrennt.

2. Herstellung der histologischen Präparate

Zur Herstellung der histologischen Präparate wurden die anatomischen Präparate 3 Tage in Bouin'scher Lösung fixiert (ROMEIS (25) § 304) und nach mehrfacher Spülung in Alkohol in Paraffin eingebettet. Bei der Einbettung war zu beachten, daß beim späteren Schneiden mit dem Mikrotom ein Längsschnitt durch die Ohrmuschel gewährleistet war. Deshalb wurden die Ohrmuscheln vor dem Einbetten der Länge nach, von der Ohrspitze bis zum Gehörgang geteilt, und der Gehörgang dorsal der Länge nach aufgeschnitten. Die entstandenen Schnittflächen wurden beim Einbetten in die Schnittebene des Mikrotoms gebracht. So wurde weitgehend vermieden, daß beim Schneiden die Ohrmuscheln nur tangential oder gar quer angeschnitten wurden. Mit einem Schlittenmikrotom wurden 4 μ dicke Schnitte angefertigt, die mit Eiweißglyzerin auf den Objektträgern fixiert wurden. Folgende histologische Färbungen bzw. Farbreaktionen wurden ausgeführt :

1. Hämatoxylin-Eosin (ROMEIS (25) § 703)
2. Bindegewebsfärbung nach DOMAGK (ROMEIS § 710)
3. Elasticafärbung nach GOMORI (ROMEIS § 1607)
4. PAS-Reaktion nach Mc-MANUS (ROMEIS § 1121)
5. Alcianblau-PAS-Reaktion (ROMEIS § 2077)

V. Makroskopischer Ablauf der Ohrnekrose

Nach 6 Stunden zeigten die Mäuseohren eine starke Gefäßzeichnung und eine diffuse Rötung. Am 2. Tag trat eine deutliche Ödembildung auf, welche die sonst etwa 1/3 mm dicken Ohren auf gut 1 mm Dicke anschwellen ließ. Die Gefäßzeichnung war weiterhin verstärkt, hatte aber inzwischen eine bläuliche

Tönung angenommen. Am 3. und 4. Tag trat eine feine, lamellose Schuppung und Blasenbildung auf. Am 5. Tag begann eine Braunverfärbung und Vertrocknung sich vom Ohrrand her, selten von der Ohrspitze her, auf die Ohrmuschel auszudehnen (Randnekrose nach GÖDAN (10)). Bis zum 8. Tag hatte die Nekrose ihre größte Ausdehnung erreicht (2/3 bis 3/4 Nekrose nach GÖDAN (10)) und die nekrotischen Ohrmuscheln hatten eine pergamentartige Beschaffenheit angenommen. Spätestens am 15. Tag waren alle Nekrosen abgestoßen und darunter auf dem Stumpf hatte sich eine neue rosa Hautschicht gebildet. Am 21. Tag waren die restlichen Teile der Ohrmuscheln geschrumpft, gefältelt und in ihren distalen Anteilen stark verdickt und globig aufgetrieben. Die feine Lanugobehaarung fehlte.

VI. Normale Histologie der Ohrmuschel der weißen Maus (Abb. 1 und 2)

Der Aufbau der Ohrmuschel der weißen Maus unterscheidet sich vom Aufbau der menschlichen Ohrmuschel im ersten Anblick durch die Struktur des elastischen Knorpels. Während die menschliche Knorpelgrundsubstanz extrazellulär liegt, befindet sich diese im Ohrknorpel der weißen Maus intrazellulär (36). Die elastischen Fasern bilden ein enges Netz in dem die mit Knorpelgrundsubstanz prall angefüllten Knorpelzellen ruhen. Die zentrale Knorpelschicht wird von außen durch das Perichondrium von den Schichten der Haut getrennt. Der Aufbau der Ohrhaut unterscheidet sich nicht wesentlich vom Aufbau der menschlichen Haut (6, 11, 12, 15). Es sind aber deutliche Unterschiede in der Ausbildung der einzelnen Schichten zu erkennen, die auch in verschiedenen Abschnitten des Mäuseohres verschieden stark ausgebildet sind. Deshalb wurden von mir folgende drei Abschnitte getrennt beschrieben.

Distales Drittel (Ohrspitze) :

Die Epidermis der Ohraußenseite zeigt im Stratum germinativum zwei bis drei Zellschichten, auf der Ohrinnenseite eine bis zwei Zellschichten. Stratum lucidum, corneum und disjunctum sind sehr schmal in Relation zum Stratum germinativum. Die Kerne der Basalzellen liegen fast perlschnurartig nebeneinander. Die Basalmembran ist deutlich erkennbar. Das Corium enthält Talgdrüsen mit deutlich sichtbaren Zellmembranen und -kernen. Papillarkörper sind nicht ausgebildet. Das Corium ist mit dem Perichondrium verwachsen. In der Subcutis fehlt das Fettgewebe vollständig. Das Bindegewebe ist nur schwach ausgeprägt und enthält auf der Ohraußenseite mehr Bindegewebspalten als auf der Ohrinnenseite. Auf der Ohraußenseite findet man längsgeschnittene quergestreifte Muskelfasern, die brückenbogenartig am Perichondrium des Knorpels entspringen und inserieren. Der Knorpel enthält große durchsichtige Knorpelzellen, die prall mit intrazellulärer Knorpelgrundsubstanz angefüllt sind und deren Zellkerne sichelförmig an den Rand gedrängt sind. Die Knorpelzellen ruhen in einem starken elastischen Fasernetz, das mit dem Perichondrium verwachsen ist. Der Knorpel ist zwei bis drei Zellschichten stark. Die Zellen des Bindegewebes sind vorwiegend spindelige Fibroblasten. Vereinzelt findet man Histiozyten und Mastzellen.

Mittleres Drittel (Abb. 1 und 2) :

Die Epidermis hat sich gegenüber der Ohrspitze in ihrer Struktur nicht verändert. Das Corium ist nur noch auf der Ohrinnenseite mit dem Perichondrium verwachsen.

Auf der Ohraußenseite tritt verstärkt subkutanes, lockeres Bindegewebe auf, das jedoch noch keine Fettzellen enthält. Die quergestreifte Muskulatur hat sich verstärkt, ebenso die Stärke des Knorpels.

Proximales Drittel (Ohrbasis) :

Die Ohrbasis reicht in dieser Einteilung bis zur Helix als distalem Ende. Sie stellt sich im histologischen Präparat als zapfenförmige Ausstülpung aller am Ohr beteiligten Gewebe dar. Distal von ihr findet man den einzigen quergestreiften Muskel auf der Ohrinnenseite. Dieser Muskel entspringt am Perichondrium der Ohrinnenseite und zieht nach proximal zur Spitze der Helix. Der Fußpunkt der Helix ist in kräftiges Fettgewebe eingebettet. Auch auf der Ohraußenseite beginnt sich in der Subcutis verstärkt Fettgewebe zu entwickeln. Man findet hier jetzt auch quergeschnittene starke Muskelbündel quergestreifter Muskulatur mit den dazugehörigen Nerven und Gefäßen. Das Corium hat ebenfalls an Dicke zugenommen. Man sieht vermehrt Haarbälge und Papillarkörper. Auf der Ohrinnenseite ist das Corium wie oben beschrieben in gleichmäßiger Stärke mit dem Perichondrium verwachsen. Die Epidermis ist ebenfalls noch zart, beginnt sich jedoch auf der Ohraußenseite zu verstärken. Die elastischen Fasern sind im Corium der Ohrbasis am stärksten entwickelt und verringern sich zur Ohrspitze hin fast vollständig.

VII. Auswertung des Hauptversuches

1. Beurteilung der histologischen Präparate

Bei der folgenden Beschreibung wird nur erwähnt, was sich gegenüber dem vorangegangenen Präparat geändert hat.

Nach 2 Stunden

Unbehandelt :

Die Basalzellen der Epidermis sind teilweise vakuolig degeneriert. Es besteht ein schwaches Ödem des Coriums. Das Corium ist jedoch insgesamt noch kompakt. Die Zellgrenze der Talgdrüsenzellen wird unscharf. Die Subcutis ist unauffällig, ebenso die übrigen Gewebsbestandteile. Die PAS-Anfärbbarkeit ist mäßig erhöht, die Alcianblau-Anfärbbarkeit ist nicht verändert.

Behandelt :

Die Basalzellen der Epidermis sind vakuolig degeneriert und nicht mehr wie im Normalpräparat perlschnurartig nebeneinanderliegend, sondern unregelmäßig übereinandergeschoben und insgesamt vergrößert. In den Zellkernen sieht man unregelmäßige Chromatinanreicherung und -verteilung. Man erkennt in Teilung befindliche Basalzellen. Das Corium ist deutlich aufgelockert und die einzelnen Fasern sind durch das beginnende Oedem auseinandergedrängt. Die Kapillaren sind verstärkt mit Erythrozyten und randständig angeordneten Leukozyten gefüllt. Es bestehen eine mäßige Zunahme der PAS-Anfärbbarkeit des Bindegewebes und einzelne stärker PAS-positive Stellen in der Subcutis und der Muskulatur. Die Alcianblau-Anfärbbarkeit ist im Bereich der Norm.

Nach 4 Stunden (Abb. 3, 4 und 5)

Unbehandelt :

Die Basalzellen der Epidermis sind vakuolig degeneriert und daher deutlich blasser anfärbbar. Die Zellkerne sind teils pyknotisch, teils in Teilungsfiguren befindlich. Man erkennt einzelne Proliferationsherde der Basalzellen, in denen diese bis zu 5 Schichten übereinander liegen. Das Corium ist relativ kompakt und weist ein geringes Oedem auf. Demgegenüber haben sich die Lymphspalten der nur gering entwickelten Subcutis auf der Ohraußenseite stark erweitert und sind mit serösem Exsudat angefüllt. Auch auf der Ohrinnenseite liegt das Corium nicht mehr dem Perichondrium dicht an. Die Kapillaren sind stark mit Erythrozyten gefüllt und ihre Umgebung ist bereits mäßig mit Leukozyten infiltriert. Einzelne Muskelfasern sind in ihrer Kontinuität unterbrochen und weisen deutliche PAS-positive Herde auf. Insgesamt ist die PAS-Anfärbbarkeit des Bindegewebes nur mäßig erhöht, und die Alcianblau-Anfärbbarkeit im Bereich der Norm. Die Knorpelzellen erscheinen geschrumpft und sind stellenweise verstärkt PAS-positiv angefärbt.

Behandelt :

Es besteht das gleiche Bild wie bei den unbehandelten Präparaten. Lediglich die Alcianblau-Anfärbbarkeit des Bindegewebes ist deutlich erhöht.

Nach 6 Stunden

Unbehandelt :

Es besteht eine deutliche Proliferation der Basalzellen mit Verdickung der Basalzellschicht und des Stratum spinosum auf 4 Zellschichten. Man erkennt atypische Basalzellen mit

pyknotischen Kernen und hellem Zytoplasma. Das Oedem ist nicht so deutlich ausgebildet wie bei den vorangegangenen Präparaten. Die PAS-Anfärbbarkeit des Bindegewebes ist mäßig bis deutlich verstärkt. Die Alcianblau-Anfärbbarkeit ist mäßig bis deutlich verstärkt. Die Elastikafärbung läßt eine verwaschene Anfärbbarkeit der Knorpel elastika erkennen.

Behandelt :

Außer einer deutlichen Erhöhung der PAS-Anfärbbarkeit des Bindegewebes und einer mäßig bis deutlichen Erhöhung der Alcianblau-Anfärbbarkeit besteht kein Unterschied gegenüber den unbehandelten Präparaten.

Nach 8 Stunden (Abb. 6)

Unbehandelt :

Man erkennt deutlich eine Auflockerung und Abhebung des Perichondriums vom Knorpel durch das Oedem, eine Schrumpfung der Knorpelzellen mit einer Faltung der Zellwände. Die Basalmembran der Epidermis ist nicht mehr deutlich erkennbar. Die Leukozyteninfiltration hat geringgradig zugenommen. Die normalerweise nur geringe Anzahl von Mastzellen scheint noch stärker zurückgegangen zu sein. Die PAS-Anfärbbarkeit des Bindegewebes ist mäßig erhöht, aber weist einzelne stärker PAS-positive Herde im Corium auf. Die Alcianblau-Anfärbbarkeit ist gegenüber den Normalpräparaten unverändert. Die elastischen Fasernetze des Knorpels und der Perichondriums erscheinen verwaschen.

Behandelt :

Im Bindegewebe ist die PAS-Anfärbbarkeit mäßig bis deutlich erhöht, die Anfärbbarkeit für Alcianblau ist mäßig erhöht.

Nach 10 Stunden

Unbehandelt :

Die Kapillaren sind deutlich gefüllt mit Erythrozyten. Es beginnt eine eosinophile Verfärbung des Oedems des Coriums. Der Anteil der Granulozyten an der zellulären Infiltration nimmt zu. Die Anfärbbbarkeit von elastischen Elementen nimmt ab. Das Oedem scheint im distalen Drittel des Ohres weniger stark ausgeprägt zu sein als im mittleren Ohrdrittel. Die Auflockerung des Coriums und der Subcutis ist im mittleren Ohrdrittel wesentlich stärker. Die PAS-Anfärbbbarkeit des Bindegewebes ist mäßig erhöht. Die Alcianblau-Anfärbbbarkeit ist normal bis angedeutet erhöht.

Behandelt :

Die PAS-Anfärbbbarkeit des Bindegewebes ist mäßig bis deutlich erhöht. Die Alcianblau-Anfärbbbarkeit ist normal oder nur angedeutet erhöht.

Nach 12 Stunden

Unbehandelt :

Man erkennt einzelne eosinophile Herde in verschiedenen Gewebsbestandteilen, den Verlust der Querstreifung der Muskulatur, eine Auflockerung des Perichondriums und eine Verquellung der elastischen Fasern, eine mäßige Erhöhung der PAS-Anfärbbbarkeit und normale bis angedeutet erhöhte Alcianblau-Anfärbbbarkeit des Bindegewebes.

Behandelt :

Die Elastika-Anfärbbbarkeit ist reduziert. Im Bindegewebe ist die PAS-Anfärbbbarkeit mäßig bis deutlich erhöht und die Alcianblau-Anfärbbbarkeit angedeutet erhöht.

Nach 15 Stunden (Abb. 7)

Unbehandelt :

Es besteht eine deutliche eosinophile Tönung des Coriums, sonst jedoch keine wesentlichen Veränderungen gegenüber den vorangegangenen Präparaten. Die PAS-Anfärbbarkeit des Bindegewebes ist mäßig erhöht, die Alcianblau-Anfärbbarkeit ist normal.

Behandelt :

Die PAS-Anfärbbarkeit des Bindegewebes ist mäßig erhöht, die Alcianblau-Anfärbbarkeit scheint normal bis geringfügig reduziert.

Nach 18 Stunden

Unbehandelt :

Es ergeben sich keine wesentlichen Veränderungen gegenüber den vorangegangenen Präparaten. Die PAS-Anfärbbarkeit des Bindegewebes ist mäßig erhöht und die Alcianblau-Anfärbbarkeit normal bis mäßig reduziert.

Behandelt :

Im Bindegewebe ist die PAS-Anfärbbarkeit mäßig erhöht, die Alcianblau-Anfärbbarkeit normal.

Nach 21 Stunden

Unbehandelt :

Die Knorpelzellen sind geschrumpft und ihre Zellkerne nicht mehr nachweisbar. Auch im Corium sind die Zellkerne der Bindegewebszellen nicht mehr oder nur schwach erkennbar.

Die Knorpelzellwände sind aufgefaltet, zum Teil auch frakturiert. Die Bindegewebsfasern sind eosinophil verquollen und in ihrer Kontinuität unterbrochen. Die Basalzellen sind vakuolig degeneriert und ihre Zellgrenzen sind unscharf. Die PAS-Anfärbbarkeit des Bindegewebes ist mäßig erhöht, seine Alcianblau-Anfärbbarkeit entspricht der der Normalpräparate.

Behandelt :

Es besteht kein Unterschied zu den unbehandelten Präparaten. Die PAS-Anfärbbarkeit des Bindegewebes ist mäßig, die Alcianblau-Anfärbbarkeit ist normal bis mäßig erhöht.

Nach 24 Stunden (Abb. 8)

Unbehandelt :

Die Leukozyteninfiltration des Coriums und der Subcutis nimmt zu. Das bisher nicht anfärbbare Oedem des Bindegewebes beginnt sich eosinophil zu färben. Die Elastikafärbung ergibt eine verminderte Anfärbbarkeit der elastischen Fasern. Außerdem erkennt man große freie Bindegewebszellen in der Subcutis mit einem stark eosinophilen Hof. Insgesamt ist die PAS-Anfärbbarkeit des Bindegewebes mäßig erhöht, die Alcianblau-Anfärbbarkeit dagegen reduziert.

Behandelt :

Die Leukozyteninfiltration des Bindegewebes ist wesentlich geringer, das Oedem zeigt noch keine Tendenz sich eosinophil anzufärben. Bei der Elastikafärbung stellen sich die elastischen Fasern nur unscharf dar. Die PAS-Anfärbbarkeit ist mäßig erhöht, die Alcianblau-Anfärbbarkeit ist im Bereich der Norm.

Nach 30 Stunden

Unbehandelt :

Die Basalzellen der Epidermis lassen sich nur noch schattenhaft darstellen. Die Fasern des Coriums sind stark auseinandergedrängt, und ihre Zwischenräume sind mit eosinophil gefärbtem Exsudat gefüllt. Deutlich erkennt man prall mit Erythrozyten gefüllte Kapillaren in der Subcutis. Die Fasern des Perichondriums stellen sich in der Elastikafärbung nur unscharf dar und das ganze Perichondrium ist ödematös verdickt und gequollen. Auffällig ist, daß sich die stärksten Veränderungen im mittleren Drittel des Ohres abspielen und das distale Ohrdrittel weniger stark reagiert. Die PAS-Anfärbbarkeit des Bindegewebes ist mäßig erhöht, die Alcianblau-Anfärbbarkeit ist reduziert.

Behandelt :

Hier erkennt man ebenfalls ein stark eosinophiles Exsudat des Coriums und der Subcutis, besonders im mittleren Ohrdrittel, das gegenüber dem distalen Ohrdrittel stark an Dicke zugenommen hat. Die Epidermis ist nicht mehr gegen das Corium abgrenzbar. Im Exsudat liegen in ihrer Kontinuität unterbrochene Muskel- und Bindegewebsfasern. Die Zellgrenzen aller Gewebsbestandteile sind unscharf. Das distale Ohrdrittel erscheint von all diesen Vorgängen deutlich weniger betroffen zu sein. Die PAS-Anfärbbarkeit des Bindegewebes ist deutlich erhöht, die Alcianblau-Anfärbbarkeit ist reduziert.

Nach 36 Stunden (Abb. 9)

Unbehandelt :

Von den Basalzellen der Epidermis sind nur noch Reste nach-

weisbar. Das eosinophile Exsudat reicht nun durch alle Schichten der Haut bis zum Knorpel, befindet sich aber vorwiegend auf der Ohraußenseite. Die zelluläre Infiltration hat weiter zugenommen und aus der bisher diffusen Infiltration des Bindegewebes bilden sich nun langsam an manchen Stellen im Corium Granulozytenbarrieren. Im Knorpel sind die Knorpelzellkerne nur noch stellenweise nachweisbar. Die PAS-Anfärbbarkeit des Bindegewebes ist mäßig erhöht, die Alcianblau-Anfärbbarkeit ist reduziert.

Behandelt :

Die zelluläre Infiltration des Gewebes ist nicht so stark ausgeprägt und auch die Granulozytenbarrieren sind nicht im gleichen Umfange nachweisbar. Die Elastikafärbung läßt eine Verklumpung der elastischen Fasern des Knorpel erkennen. Die PAS-Anfärbbarkeit des Bindegewebes ist mäßig bis deutlich erhöht, die Alcianblau-Anfärbbarkeit ist normal bis reduziert.

Nach 2 Tagen

Unbehandelt :

Im mittleren Ohrdrittel und im Bereich der Helix erkennt man flache Nekroseherde, die bis in die Mitte des Coriums reichen und durch einen Granulozytenwall abgegrenzt sind. Gleichzeitig sieht man, wie sich am Rande dieser Nekrosen knospenartig Proliferationsherde der akanthotischen Epidermis als Zeichen der Epidermisregeneration bilden und von der Seite her unter die Nekrose vordringen. Das distale Ohrdrittel weist einen Zustand auf wie die Präparate nach höchstens 24 Stunden. Die PAS-Anfärbbarkeit des Bindegewebes ist mäßig bis deutlich erhöht. Die Alcianblau-Anfärbbarkeit ist reduziert.

Behandelt :

Im stark ausgebildeten eosinophilen Exsudat lassen sich die einzelnen Bindegewebsbestandteile nur noch schattenhaft erkennen. Die Demarkation einzelner kleinerer Nekrosen ist erkennbar, jedoch ist die Proliferation der Epidermis vom Rande der Nekrosen her teils noch nicht, teils nur angedeutet vorhanden. Die PAS-Anfärbbarkeit ist deutlich erhöht. Die Alcianblau-Anfärbbarkeit ist normal.

Nach 3 Tagen (Abb. 10)

Unbehandelt :

Im mittleren Ohrdrittel besteht zu den vorangegangenen Präparaten kein wesentlicher Unterschied. Erwähnenswert ist jedoch im Vergleich dazu der Zustand der Ohrspitze : Die Epidermis ist in ihrer Kontinuität stellenweise unterbrochen und läßt sich nicht mehr gleichmäßig anfärben. Die Basalzellschicht, das Corium, die Subcutis und das Perichondrium sind nicht mehr deutlich voneinander abgrenzbar. Die Knorpelzellen sind maximal geschrumpft, die Kontinuität der Zellwände ist unterbrochen und das elastische Fasernetz läßt sich nicht mehr einheitlich anfärben. Im Bindegewebe sind keine Fasern oder Bindegewebszellen mehr erkennbar. Haarbälge, Talgdrüsen und größere Kapillaren lassen sich nur noch undeutlich wahrnehmen. Die diffuse Infiltration mit Granulozyten ist deutlich geringer als im Bereich des mittleren Ohrdrittels der vorangehenden Präparate. Die eosinophile Färbung hat sich noch nicht gleichmäßig über die Ohrspitze ausgebreitet. Die PAS-Anfärbbarkeit des Bindegewebes ist mäßig erhöht, die Alcianblau-Anfärbbarkeit ist reduziert.

Behandelt :

Man findet eine eosinophile Färbung des distalen Ohrdrittels

jedoch scheinen die leukozytäre Infiltration, die Ausbildung der Nekrose und des Leukozytenwalles geringer zu sein. Man erkennt die beginnende Akanthose der proximalen Epidermis, aber noch keine Epithelknospen unter den Nekrosen. Die PAS-Anfärbbarkeit des Bindegewebes ist jedoch stark erhöht, die Alcianblau-Anfärbbarkeit ist im Bereich der Norm.

Nach 4 Tagen

Unbehandelt :

Das distale Ohrdrittel ist mit Eosin leuchtend rot gefärbt (Zeichen totaler Nekrose) und läßt außer dem Knorpelgerüst keine Gewebsbestandteile erkennen. Nach proximal schließt sich eine zellarme, ödematöse Übergangszone zum mittleren Ohrdrittel an. Hier erkennt man noch Bindegewebsreste, eine deutliche Infiltration von Granulozyten und eine kräftige Akanthose der Epidermis. Das nekrotische distale Ohrdrittel ist jedoch noch nicht demarkiert. Die PAS-Anfärbbarkeit ist im Bereich der Nekrose und im mittleren Ohrdrittel stark erhöht. Die Alcianblau-Anfärbbarkeit ist in der Nekrose reduziert und im mittleren Ohrdrittel normal bis reduziert.

Behandelt :

Es besteht der gleiche Zustand wie bei den unbehandelten Präparaten. Die PAS-Anfärbbarkeit ist sowohl in der Nekrose als auch im mittleren Ohrdrittel stark erhöht und betrifft alle Gewebsbestandteile. Die Alcianblau-Anfärbbarkeit ist in der Nekrose reduziert und im mittleren Ohrdrittel normal.

Nach 5 Tagen (Abb. 11)

Unbehandelt :

Die Demarkierung des distalen Ohrdrittels durch einen kräftigen Granulozytenwall ist nur durch den Ohrknorpel unterbrochen. Von proximal her beginnt sich eine kräftige Epithelknospe, den Granulozytenwall anscheinend als Wegweiser benutzend, unter die Nekrose vorzuschieben. Die Infiltration des mittleren Ohrdrittels besteht teils aus Granulozyten, teils aus Lymphozyten. Außerdem sind vermehrt Monozyten nachweisbar. Die PAS-Anfärbbarkeit des Bindegewebes hat in der Nekrose ihr Maximum erreicht und ist im mittleren Ohrdrittel mäßig erhöht, die Alcianblau-Anfärbbarkeit ist in der Nekrose reduziert und im mittleren Ohrdrittel im Bereich der Norm.

Behandelt :

Die Demarkierung der Nekrose ist nicht vollständig. Auch die zelluläre Infiltration des Bindegewebes scheint geringer zu sein. Die Epithelknospen am Rand der Nekrosen und die Akanthose sind jetzt deutlich erkennbar. Die PAS-Anfärbbarkeit des Bindegewebes ist im mittleren Ohrdrittel deutlich erhöht und hat ihr Maximum in der Nekrose erreicht, die Alcianblau-Anfärbbarkeit ist in der Nekrose reduziert, im mittleren Ohrdrittel im Bereich der Norm. Die Elastikafärbung ergibt gegenüber den vorhergehenden Präparaten eine verstärkte Anfärbbarkeit der elastischen Gewebsanteile.

Nach 6 Tagen (Abb. 12)

Unbehandelt :

Die Nekrose ist noch nicht abgestoßen. Die bereits neugebildete Epidermis zeigt eine Akanthose mit bis zu 7 Zellschichten der Basalzellschicht und des Stratum spinosum (Normal : 2, höchstens 3 Zellschichten) im kräftig ausgebil-

deten, in das Corium vordringenden Epithelleisten. Außerdem erkennt man eine Hyperkeratose des Stratum corneum. Das Corium ist noch stark mit Granulo- und Lymphozyten infiziert. Die Zahl der Fibroblasten hat zugenommen. Außerdem haben sich stark mit Erythrozyten gefüllte Kapillaren unmittelbar unter dem Leudozytenwall neu gebildet. Das Perichondrium ist infiltriert und aufgefaserter, zeigt aber auch vermehrt Fibroblasten. Der Granulozytenwall ist beidseits des Perichondriums gut ausgeprägt, hat aber das in die Nekrose reichende Knorpelgerüst noch nicht durchbrochen. Es ist jetzt kein Ödem mehr nachweisbar. Die Elastikafärbung ergibt eine zunehmende Anfärbbarkeit im neugebildeten Corium. Die PAS-Anfärbbarkeit ist in der Nekrose stark, im Granulationsgewebe mäßig erhöht. Die Alcianblau-Anfärbbarkeit ist in der Nekrose nicht mehr vorhanden und hat sich im Granulationsgewebe normalisiert.

Behandelt :

Kein Unterschied zu den unbehandelten Präparaten. Nur die PAS-Anfärbbarkeit ist in der Nekrose stark und im Granulationsgewebe deutlich erhöht.

Nach 7 Tagen (Abb. 13)

Unbehandelt :

Die Nekrose ist noch nicht abgestoßen und die Epitheldecke noch nicht geschlossen. Die Spitzen der Epithelknospen haben sich dem Knorpelgerüst genähert, dieses stellenweise auch schon erreicht, jedoch noch nicht durchbrochen. Das Epithel bildet tropfenförmige Epithelleisten, die in das Granulationsgewebe hineinragen und teilweise als von der Epidermis getrennte Epithelnester imponieren. Das übrige Gewebsbild hat sich gegenüber dem vorhergehenden Präparat nicht geändert.

Behandelt :

Im Gewebsbild besteht kein Unterschied zu den behandelten Präparaten. Die PAS-Anfärbbarkeit ist im Granulationsgewebe nur mäßig erhöht.

Nach 9 Tagen

Unbehandelt :

Die Nekrose ist noch nicht abgestoßen und die Epithelialisierung ist noch unvollständig. Man erkennt wieder deutlich, daß Fortsätze des Epithels in das stark entwickelte Corium hineinproliferieren und dort eigenständige Nester zu bilden scheinen, vorgetäuscht durch Querschnitte durch schräg in das Corium einwachsende Retezapfen. Im übrigen gleicht das Gewebsbild den vorhergegangenen Präparaten. Die PAS-Anfärbbarkeit ist mäßig erhöht. Die elastischen Elemente des Coriums lassen sich wieder vermehrt anfärben.

Behandelt :

Es besteht kein wesentlicher Unterschied zu den unbehandelten Präparaten.

Nach 11 Tagen (Abb. 14)

Unbehandelt :

Die Epitheldecke ist vollständig und die Nekrose ist abgestoßen. Die Fibroblastenproliferation hat zugenommen und auch in den anderen Gewebsbestandteilen erkennt man vermehrte Zellproliferation. Im Knorpelgerüst sind vermehrt Zellkerne nachweisbar. Die Knorpelzellen sind wieder gerundet und die Zellmembranen sind straff. Das Perichondrium ist noch aufgelockert, und am Übergang zum Knorpelgerüst entstehen neue Knorpelzellen, deren Zellkerne noch nicht durch die intra-

zelluläre Knorpelgrundsubstanz halbmondförmig an die Zellwand gedrängt ist. Die PAS-Anfärbbarkeit des Bindegewebes ist mäßig erhöht, die Alcianblau-Anfärbbarkeit normal bis mäßig erhöht. Die Elastika-Anfärbbarkeit des Coriums ist vermehrt, hat ihren Ausgangswert wie vor der Bestrahlung jedoch noch nicht erreicht.

Behandelt :

Die Epitheldecke ist noch unvollständig und die Nekrose noch nicht abgestoßen. Die zelluläre Infiltration des Bindegewebes ist stärker. Die Akanthose und Hyperkeratose ist nicht so stark ausgeprägt. Die PAS-Anfärbbarkeit des Bindegewebes ist mäßig, die Alcianblau-Anfärbbarkeit ist normal bis mäßig erhöht.

Nach 13 Tagen

Unbehandelt :

Die Epithelialisierung ist vollständig. Die Nekrose ist jedoch noch nicht in allen Teilen abgestoßen. Die Infiltration von Granulo- und Lymphozyten hat im Bindegewebe zugunsten einer Proliferation von Fibroblasten und anderer Bindegewebszellen abgenommen. Die Reste der Muskelfasern haben an Durchmesser zugenommen und die Muskelzellkerne sind vergrößert und vermehrt. In der Mitte der in das Corium eingedrungenen Epithelleisten gruppieren sich die Zellen kreisförmig um ein hyperkeratotisches Zentrum als Zeichen eines sich wieder von der Schädigung erholenden Restes der Lanugobehaarung. Die PAS-Anfärbbarkeit des Bindegewebes ist mäßig, die Alcianblau-Anfärbbarkeit ist normal bis mäßig erhöht.

Behandelt :

Es besteht kein Unterschied zu den unbehandelten Präparaten.

Nach 15 Tagen

Unbehandelt :

Es besteht kein Unterschied zu den vorhergehenden Präparaten. Nur die Alcianblau-Anfärbbarkeit des Bindegewebes ist mäßig bis deutlich erhöht. In manchen Epithelleisten beginnen Reste der geschädigten Talgdrüsen zu regenerieren.

Behandelt :

Es besteht kein Unterschied zu den unbehandelten Präparaten.

Nach 17 Tagen

Unbehandelt :

Die Epidermis ist akanthotisch und hyperkeratotisch. Im Corium findet man vorwiegend Fibroblasten und kollagene Fasern, die ungeordnet in allen Richtungen das Gewebe durchziehen. Aus den Kapillarsprossen haben sich breitlumige gut durchblutete Kapillaren entwickelt. Man erkennt wieder deutlich, daß im Bereich der akanthotisch gebildeten Reteleisten Reste von geschädigten Talgdrüsen und Haarbälgen regenerieren und ihre Zellen sich wieder deutlich anfärben. Es treten vermehrt Mastzellen auf. Die PAS-Anfärbbarkeit des Coriums ist mäßig, die Alcianblau-Anfärbbarkeit deutlich erhöht.

Behandelt :

Es besteht kein Unterschied zu den unbehandelten Präparaten

Nach 19 Tagen (Abb. 15)

Unbehandelt :

Die entzündliche Infiltration hat sich stark verringert und zeigt nur noch gleichmäßig über das Granulationsgewebe verteilte Lymphozyten. Die neugebildete Epidermis hat nun eine gleichmäßige Dicke (etwa 5 bis 7mal dicker als ursprünglich). Das Corium ist stark kollagenisiert und besonders auf der der Strahlungsquelle zugewandten Seite bis zum 4-fachen seiner früheren Stärke verbreitert. Die PAS-Anfärbbarkeit des Granulationsgewebes ist mäßig erhöht, die Alcianblau-Anfärbbarkeit ist deutlich erhöht.

Behandelt :

Kein Unterschied zu den unbehandelten Präparaten.

Nach 21 Tagen

Unbehandelt und behandelt :

Kein Unterschied zu den vorhergehenden Präparaten.

Nach 23 Tagen (Abb. 16)

Unbehandelt :

Im Bereich der Narbe ist nur noch ein umschriebener Anteil der Epidermis akanthotisch und hyperkeratotisch verändert. Die übrigen Epidermisanteile haben sich normalisiert. Das Corium ist noch auf das 4- bis 5-fache der Norm verdickt. Das Fasergeflecht scheint sich aber geringfügig gelockert zu haben und zeigt vermehrt Bindegewebsspalten. Die lymphozytäre Infiltration ist weitgehend abgeklungen und hat einer noch erhöhten Zahl von freien Bindegewebszellen Raum gegeben. Im Zentrum der Narbe sind keine Haare oder Haaranhangsgebilde

nachweisbar. Insgesamt ist die aus dem zunächst großen Bereich infiltrierten Gewebes entstandene Narbe relativ klein. Das Narbengewebe geht fließend in eine Übergangszone mit funktionstüchtigen Talgdrüsen, Lanugobehaarung, Muskel- und Knorpelzellregenerationen über, der sich weiter zur Ohrbasis hin normale Hautverhältnisse anschließen. In der Narbe selbst ist davon nichts nachzuweisen. Auch elastische Fasern sind nicht nachweisbar. Die PAS- und Alcianblau-Anfärbbarkeit des Binde- und Narbengewebes hat sich normalisiert.

Behandelt :

Kein Unterschied zu den unbehandelten Präparaten.

2. Die Entwicklung der Ohrnekrose (Zusammenfassung)

Bereits nach 2 Stunden erkennt man eine deutliche schwächere Anfärbbarkeit des gesamten Präparates. Besonders die Basalzellen haben ihre gute Anfärbbarkeit verloren und erscheinen gequollen. Ihre perlschnurartige Anordnung ist verlorengegangen. Die PAS-Anfärbbarkeit der Präparate ist leicht erhöht. Nach 4 Stunden sieht man, daß sich viele Basalzellen vermehrt in unterschiedlichen Teilungsphasen befinden, andere dagegen pyknotisch geworden sind. Inzwischen hat sich auch ein zunächst nur geringes Oedem im Corium entwickelt. Dagegen haben sich auf der Ohraußenseite die Lymphspalten der gering entwickelten Subcutis erweitert und mit serösem Exsudat angefüllt. Die Kapillaren des Coriums sind ebenfalls erweitert und werden nun durch eine starke Füllung mit Erythrozyten gut erkennbar. Es beginnt eine geringe perikapilläre Infiltration. Nach 6 Stunden erkennt man eine deutliche Proliferation der Basalzellen und eine Verbreiterung des Stratum spinosum auf 4 Zellschichten. Die elastischen Fasern des Knorpels stellen sich nur unscharf dar. Nach 8 Stunden sieht man, daß sich das

Oedem weiter ausgebreitet hat und sich zwischen Knorpel und Perichondrium drängt. Gleichzeitig fällt eine Schrumpfung der Knorpelzellen auf mit einer Auffältelung der Zellwände. Nach 10 Stunden haben sich die Kapillaren noch stärker mit Erythrozyten gefüllt. Das Oedem, das im mittleren Ohrdrittel am stärksten entwickelt ist, beginnt sich eosinophil zu färben. Nach 12 Stunden tritt stellenweise ein Verlust der Querstreifung der Muskulatur auf der Ohraußenseite und eine Verquellung der elastischen Gewebsbestandteile ein. Nach 15 Stunden ist das Oedem des Coriums deutlich eosinophil angefärbt. Nach 21 Stunden sind nur noch wenige Knorpelzellkerne nachweisbar, die Zellwände sind geschrumpft und teilweise frakturiert. Ein großer Teil der Bindegewebsfasern ist eosinophil verquollen und in ihrer Kontinuität unterbrochen. Nach 24 Stunden hat die leukozytäre Infiltration deutlich zugenommen, und auch in der Subcutis färbt sich das Oedem eosinophil. Nach 30 Stunden beginnt die Alcianblau-Anfärbbarkeit des Bindegewebes abzusinken. Nach 36 Stunden hat das Oedem seine maximale Stärke erreicht und sich vollständig eosinophil angefärbt. Die zelluläre Infiltration hat weiterhin zugenommen, ist aber noch diffus über das ganze Präparat verteilt. Nach 2 Tagen erkennt man erstmals deutlich flache, randständige Nekroseherde, die bis in die Mitte des Coriums reichen und durch einen deutlichen Granulozytenwall abgegrenzt sind. Gleichzeitig schieben sich Proliferationsknospen der Epidermis vom Rande her unter die Nekrosen, indem sie den Granulozytenwall als Wegweiser benutzen. Nach 3 Tagen beginnt die in der Entwicklung nachhinkende Ohrspitze sich zunehmend eosinophil zu färben. Sie ist jedoch noch nicht durch einen Granulozytenwall demarkiert. Nach 4 Tagen hat die Ohrspitze eine leuchtend rote Eosinfärbung angenommen und läßt außer dem Knorpelgerüst keine Gewebsbestandteile mehr erkennen. Die PAS-Anfärbbarkeit hat in diesem Bereich ihr Maximum erreicht, die

Alcianblau-Anfärbbarkeit ist dagegen reduziert. Nach proximal schließt sich eine zellarme, ödematöse Übergangszone zum mittleren Ohrdrittel an. Nach 5 Tagen hat sich ein kräftiger Granulozytenwall entwickelt, der die Nekrose der Ohrspitze demarkiert und der nur noch durch den Ohrknorpel unterbrochen ist. Wieder erkennt man eine kräftige Epithelknospe, die den Granulozytenwall als Wegweiser benutzend sich vom proximalen Rand her unter die Nekrose vorzuschieben beginnt. Die Alcianblau-Anfärbbarkeit des Bindegewebes hat im mittleren Ohrdrittel ihren Normalwert wieder erreicht. Nach 6 Tagen zeigt die neugebildete Epidermis am Rande der Nekrose eine Akanthose von 7 Zellschichten und eine Hyperkeratose. Außerdem beginnen kräftige Epithelleisten in das Corium vorzudringen. Die Infiltration des Coriums besteht teils aus Granulo-, teils aus Lymphozyten. Auch die Zahl der Fibroblasten hat zugenommen. Nach 7 Tagen haben die Spitzen der Epithelknospen den Ohrknorpel erreicht, aber noch nicht durchbrochen. Die Nekrose ist noch nicht abgestoßen. Das neugebildete Epithel bildet tropfenförmige Fortsätze, die in das Granulationsgewebe hineinragen und teilweise als selbständige Epithelnester imponieren. Reste der elastischen Fasern beginnen sich als Zeichen der Regeneration im mittleren Ohrdrittel verstärkt anzufärben. Nach 11 Tagen ist bei einigen Präparaten die Nekrose bereits abgestoßen und die Epithelialisierung ist vollständig. Die Fibroblastenproliferation hat weiterhin zugenommen und auch in anderen Gewebsbestandteilen erkennt man eine verstärkte Zellproliferation. Im Knorpelgerüst sind wieder vermehrt Zellkerne nachweisbar. Die Knorpelzellen beginnen sich wieder zu runden, und die Zellwände sind straff. Außerdem sieht man Proliferationen von Knorpelzellen. Nach 13 Tagen beginnt die Infiltration von Granulo- und Lymphozyten zugunsten der Proliferation von Fibroblasten und anderen Bindegewebszellen abzunehmen. Nach 15 Tagen hat sich die Alcianblau-Anfärbbarkeit deutlich erhöht. Die Elastika-Anfärbbarkeit des Coriums ist gegenüber den Normalpräparaten vermindert,

jedoch gegenüber den vorangehenden Präparaten angestiegen. Nach 17 Tagen hat sich eine akanthotische und hyperkeratotische Epidermis gebildet. Im Corium findet man vorwiegend Fibroblasten und kollagene Fasern, die ungeordnet in allen Richtungen das Gewebe durchziehen. Die Epithelleisten beginnen sich nun wieder zurückzubilden und den regenerierten Resten der akanthotisch verdickten Epidermis von Haarsprossen und Talgdrüsen Platz zu machen. Nach 19 Tagen hat sich die entzündliche Infiltration stark verringert, und zeigt nur noch eine geringe Anzahl gleichmäßig über das Granulationsgewebe verteilter Lymphozyten. Die Zahl der Mastzellen hat sich erhöht. Die neugebildete Epidermis ist in ihrem Durchmesser auf das 5- bis 7-fache der ursprünglichen Stärke angewachsen. Es sind jetzt keine Epithelleisten mehr erkennbar. Auch das neugebildete Corium ist bis zum 4-fachen seiner früheren Dicke verbreitert und stark kollagenisiert, besonders auf der der Strahlenquelle zugewandten Seite. Nach 23 Tagen hat sich die Stärke der Epidermis bis auf einen umschriebenen Anteil im Bereich der Narbe weitgehend normalisiert. Das Corium ist noch auf das 4- bis 5-fache der Norm verdickt. Zwischen dem Narbengewebe und dem normalen Ohrmuschelgewebe befindet sich eine Übergangszone mit Muskel- und Knorpelzellregenerationen, funktionstüchtigen Talgdrüsen, Lanugobehaarung und in verringertem Maße elastischen Fasern. Die PAS- und Alcianblau-Anfärbbarkeit des Binde- und Narbengewebes haben sich weitgehend normalisiert.

3. Der Unterschied im Ablauf der Ohrnekrose bei den mit GPK-c behandelten Versuchstieren

Der Ablauf der Ohrnekrose bei den mit GPK-c behandelten Versuchstieren unterscheidet sich nicht wesentlich von der Entwicklung der Ohrnekrose der unbehandelten Versuchstiere. Nur der Verlauf der Alcianblau-Anfärbbarkeit des Bindegewebes und des elastischen Fasernetzes des Knorpels unterscheidet

sich während der ersten 3 Tage deutlich : Während bei den unbehandelten Präparaten die Anfärbbbarkeit erst nach 6 Stunden mäßig ansteigt und nach 24 Stunden bereits reduziert ist, hat sie sich bei den mit GPK-c behandelten Präparaten bereits nach 4 Stunden deutlich verstärkt, ist erst nach 30 Stunden vorübergehend reduziert und erreicht nach 48 Stunden den Normwert. Die Alcianblau-Anfärbbbarkeit hat bei den unbehandelten Präparaten erst am 5. Tag nach der Bestrahlung ihren Normwert wieder erreicht. Das Verhalten der sich anschließenden Präparate ist bei behandelten und unbehandelten Präparaten im wesentlichen gleich. Nach 7 Tagen beginnt die Alcianblau-Anfärbbbarkeit langsam anzusteigen und erreicht ihr Maximum am 17. Tag. Danach beginnt sie allmählich wieder abzufallen. Die PAS-Anfärbbbarkeit verläuft bei behandelten und unbehandelten Präparaten weitgehend parallel. Sie steigt nach 2 Stunden mäßig an. Nach 24 Stunden erhöht sie sich im ganzen Präparat deutlich und erreicht ab dem 3. Tag in der Nekrose ihr Maximum, während im noch reaktionsfähigen Gewebe die PAS-Anfärbbbarkeit bis zum 7. Tag deutlich, in der folgenden Zeit dann nur noch mäßig erhöht ist.

VIII. Diskussion der Ergebnisse

Entsprechend den Ausführungen MIESCHERS (20) zur Histologie der lichtbedingten Reaktionen zeigt der Ablauf der Ohrnekrose, daß die Reaktion nicht nur dem klassischen UV-Erythem entspricht, sondern auch der Reaktion auf langwelliges UV. Zusätzlich erkennt man eine Schädigung der elastischen Fasern. Dieses Resultat ist auch aus den biologisch wirksamen Wellenlängen des Emissionsspektrums der verwendeten Strahlenquelle zu erwarten. Wie die Vorversuche von GÖDAN (10) erwarten ließen, konnte bei der Bestrahlungsdauer von 30 Minuten ein prophylaktischer oder therapeutischer Effekt von GPK-c an den

Ohren der Versuchstiere nicht mit Sicherheit erwartet werden. WÜNSTEL (41) hat erst bei dieser Bestrahlungsdauer eine zuverlässig reproduzierbare und für seine Versuche optimale Schädigung der Rückenhaul der weißen Maus erzielt, die sich durch GPK-c deutlich beeinflussen ließ. GÖDAN (10) wählte für die Prüfung von GPK-c deshalb Bestrahlungszeiten von 10 und 15 Minuten. Daraus ergibt sich, daß die Ohrmuschel der weißen Maus mindestens zweimal empfindlicher als die Rückenhaul auf die Strahlung der verwendeten Strahlenquelle reagiert. Das hat meiner Auffassung nach unter anderem seine Begründung in der etwa $1/3$ dünneren Epidermis. Auffällig scheint mir auch die Reaktion der Epidermis auf die Noxe. Außer einer Schädigung eines Teiles der Basalzellen scheint direkt oder indirekt auch ein Proliferationsreiz auf den anderen Teil der Basalzellen ausgeübt werden, was bereits nach 4 Stunden im histologischen Bild zu erkennen ist. Interessant ist weiter, daß die Hautreaktionen im Verlauf der Ohrnekrose sich im mittleren Drittel der Ohrmuschel abspielen, während gleichzeitig mit der makroskopisch sichtbaren Vertrocknung der Ohrspitze in dieser eine "Konser-vierung" der allerersten Reaktionen eintritt, bis sie sich am 4. Tag nach der Bestrahlung stark eosinophil anfärbt und ihre Gewebsbestandteile nicht mehr erkennbar sind. Das Ausmaß der Nekrose ist nach MIESCHER (20) von der UV-Strahlendosis abhängig. Diese Auffassung hat sich durch die Versuche von GÖDAN (10) bestätigt. Der einzige Unterschied zwischen mit GPK-c behandelten und unbehandelten Präparaten scheint mir im Verhalten der sauren Mucopolysaccharide zu liegen, die bei den behandelten Präparaten während der ersten 4 Tage deutlich vermehrt gegenüber den unbehandelten Präparaten zu sein schienen. Inwieweit GPK-c den Mucopolysaccharidstoffwechsel beeinflußt, ist meines Wissens noch nicht bekannt. Im Verhalten der neutralen Mucopolysaccharide ist zwischen den mit GPK-c behandelten und unbehandelten Präparaten kein wesentlicher

Warum die elastischen Fasern geschädigt werden, läßt sich lichtmikroskopisch nicht feststellen. Die vorhandenen regenerationsfähigen Reste erholen sich langsamer als das übrige Gewebe. In der Narbe selbst sind am 23. Tag nach der Bestrahlung keine elastischen Fasern nachweisbar. Ob sie sich zu einem späteren Zeitpunkt noch in der Narbe gebildet hätten, läßt sich aus den vorliegenden Präparaten nicht erkennen. Der hier angewandte, von GÖDAN (10) übernommene, Versuchsaufbau erscheint mir zur klinischen Prüfung von par-entheral applizierten Lichtschutzpräparaten wegen seiner Einfachheit bei Anwendung einer Strahlendosis von 10 bis 15 Minuten sehr geeignet. Die hier gewählte Staffelung der Lebenszeiträume der Versuchstiere nach der Bestrahlung läßt meiner Meinung nach eine gute Beurteilung der Abläufe der UV-lichtbedingten Entzündungserscheinungen zu.

IX. Zusammenfassung

Diese tierexperimentelle Arbeit beschreibt die Histologie der UV-lichtbedingten Ohrmuschelnekrose der weißen Maus in ihrem zeitlichen Ablauf, und den Versuch ihrer Beeinflussung durch einen Glykopeptidkomplex aus Citrusfrüchten. 104 männliche Albinomäuse wurden 30 Minuten aus 40 cm Entfernung mit einem Quecksilber-Hochdruckbrenner vom Typ Q 600 bestrahlt. Dadurch wurde eine akute Lichtentzündung der Ohrmuscheln erzeugt, die zu einer Ohrnekrose führte, der die Hälfte bis zwei Drittel der Ohrmuschel zum Opfer fiel. Der einen Hälfte der Versuchstiere wurde einmal vor und dreimal nach der Bestrahlung eine Dosis von 0,02 mg GPK-c/Gramm des Versuchstieres in die Schwanzvene injiziert. Die Versuchstiere wurden in solchen zeitlichen Abständen getötet, daß sich in den aufeinander folgenden histologischen Präparaten ein vollständiger Ablauf der Entwicklung der Ohrmuschelnekrose ergab. Zwischen behandelten und unbehandelten Versuchstieren war kein deutlicher Unterschied hinsichtlich des Ablaufes der Ohrmuschelnekrose festzustellen. Dies ist wahrscheinlich auf die zu hohe eingestrahelte UV-Dosis zurückzuführen.

X. Bildtafeln

Die nachfolgenden 16 Abb. stellen Ohrmuschellängsschnitte dar und sind nach der Lebenszeit der Versuchstiere nach der Bestrahlung geordnet. Da kein signifikanter Unterschied in der Entwicklung der Ohrmuschelnekrose zwischen unbehandelten und mit GPK-c behandelten Versuchstieren besteht, wurden hier aus beiden Gruppen die histologischen Präparate ausgewählt, deren Abb. die einzelnen Vorgänge der Entwicklung der Ohrmuschelnekrose am besten erkennen lassen. Die Abb. 1 und 2 stellen Ausschnitte aus Präparaten unbestrahlter Versuchstiere dar und dienen den folgenden Abb. zum Vergleich. Die Abb. 2,3,4 und 12 lassen durch ihre unterschiedliche Tönung des Gewebes die unterschiedliche Anfärbbarkeit mit Alcianblau erkennen. Die gleichzeitige PAS-Reaktion bleibt dabei ohne Einfluß.

Legende zu den nachfolgenden Abb. :

B	=	Basalzellen
C	=	Corium
E	=	Epidermis
Ek	=	Epithelknospe
El	=	Epithelleiste
G	=	Granulozytenwall
GG	=	Granulationsgewebe
gK	=	geschrumpfte Knorpelzellen
H	=	Haarbalg
K	=	Knorpelzellen
Ka	=	Kapillare
KR	=	Knorpelregeneration
M	=	quergestreifte Muskulatur
MR	=	Muskelregeneration
N	=	Nekrose
OA	=	Ohraußenseite
Ö	=	Ödem
OI	=	Ohrinnenseite
P	=	Perichondrium
S	=	Subcutis
T	=	Talgdrüse

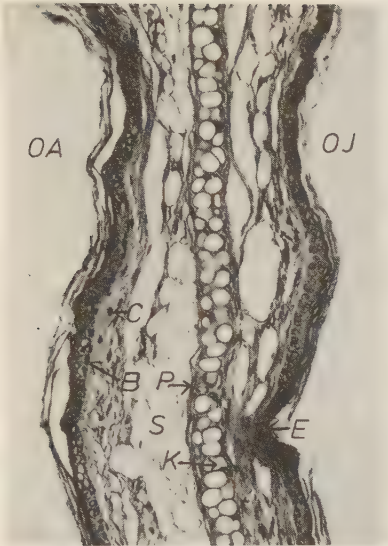


Abb.1: Ausschnitt aus einem normalen Längsschnitt der Ohrmuschel der weißen Maus. Mittleres Ohrdrittel (HE, 112x)



Abb.2: Ausschnitt aus einem normalen Längsschnitt der Ohrmuschel der weißen Maus. Mittleres Ohrdrittel (Alcianblau, 112x)

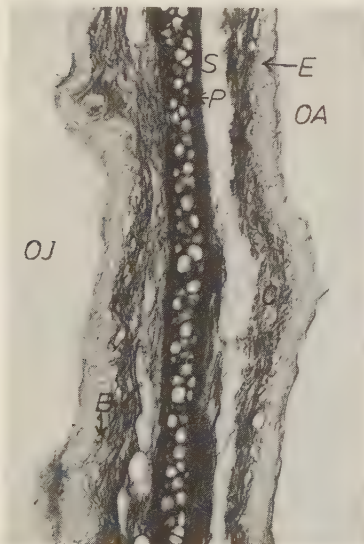


Abb.3: Ausschnitt aus einem UV-bestrahlten, unbehandelten Ohrmuschellängsschnitt. Mittleres Ohrdrittel, 4Std.n. Bestrahlung. (Alcianblau-PAS, 112x)

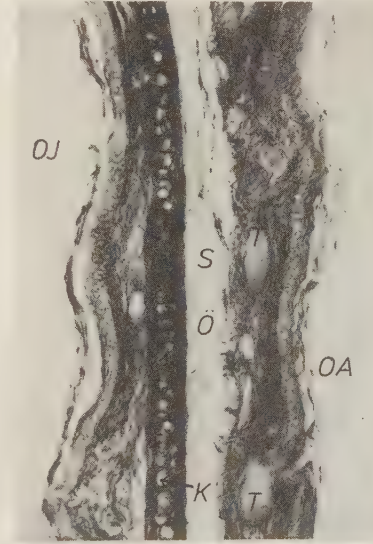


Abb.4: Ausschnitt aus einem UV-bestrahlten, GPK-c-behandelten Ohrmuschellängsschnitt. Mittleres Ohrdrittel, 4Std.n. Bestrahlung. (Alcianblau-PAS, 112x)

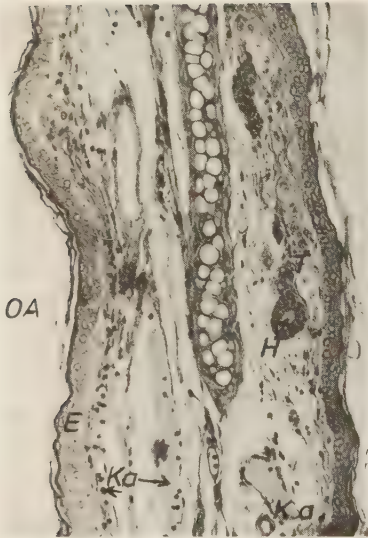


Abb.5:Ausschnitt aus einem UV-bestrahlten,unbehandelten Ohrmuschellängsschnitt.Mittleres Ohrdrittel.4 Std.n.Bestrahlung. (HE, 112x)

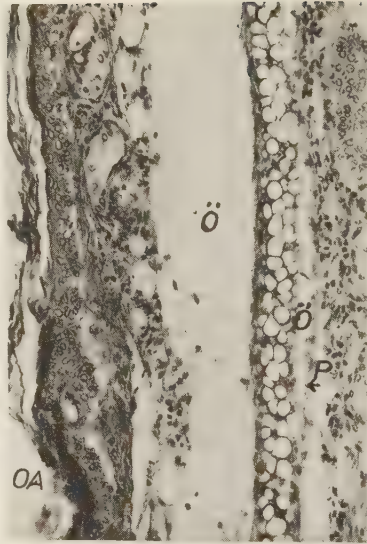


Abb.6:Ausschnitt aus einem UV-bestrahlten, GPK-c-behandelten Ohrmuschellängsschnitt.Mittleres Ohrdrittel.8 Std.n.Bestrahlung. (HE, 112x)



Abb.7: Ausschnitt aus einem UV-bestrahlten,unbehandelten Ohrmuschellängsschnitt.Distales Ohrdrittel, 15 Std.n.Bestrahlung (HE, 112x)

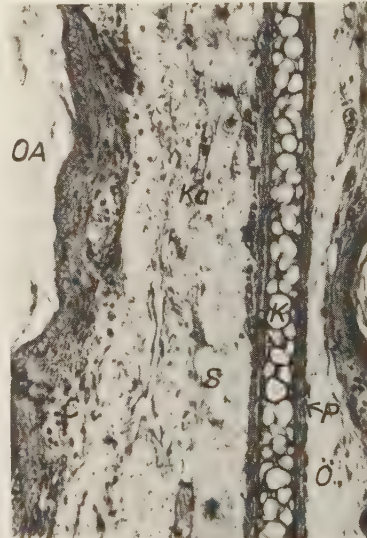


Abb.8: Ausschnitt aus einem UV-bestrahlten, unbehandelten Ohrmuschellängsschnitt.Mittleres Ohrdrittel. 24 Std. n. Bestrahlung. (HE, 112x)



Abb.9:Ausschnitt aus einem UV-bestrahlten, unbehandelten Ohrmuschellängsschnitt. Mittleres Ohrdrittel. 36 Std. n. Bestrahlung. (HE, 112x)

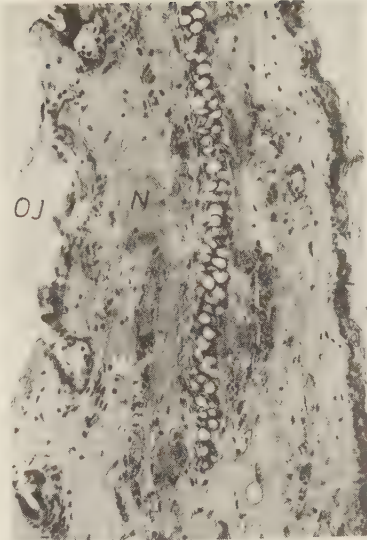


Abb.10:Ausschnitt aus einem UV-bestrahlten, unbehandelten Ohrmuschellängsschnitt. Distales Ohrdrittel. 3 Tage n. Bestrahlung. (HE, 112x)

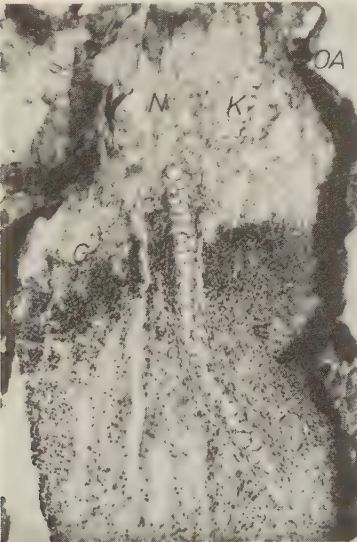


Abb.11:Ausschnitt aus einem UV-bestrahlten, unbehandelten Ohrmuschellängsschnitt. Mittleres Ohrdrittel. 5 Tage n. Bestrahlung. (HE, 72x)

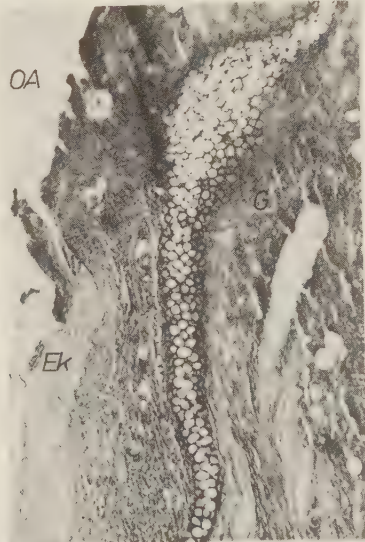


Abb.12:Ausschnitt aus einem UV-bestrahlten, unbehandelten Ohrmuschellängsschnitt. Mittleres Ohrdrittel. 6 Tage n. Bestrahlung. (Alcianblau-PAS, 72x)

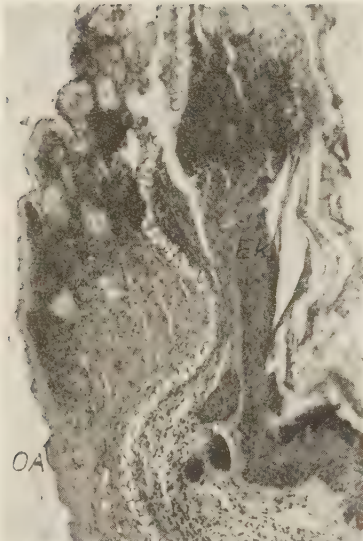


Abb.13: Ausschnitt aus einem UV-bestrahlten, GPK-c-behandelten Ohrmuschel­längsschnitt. Mittleres Ohrdrittel. 7 Tage n. Bestrahlung. (HE, 72x)

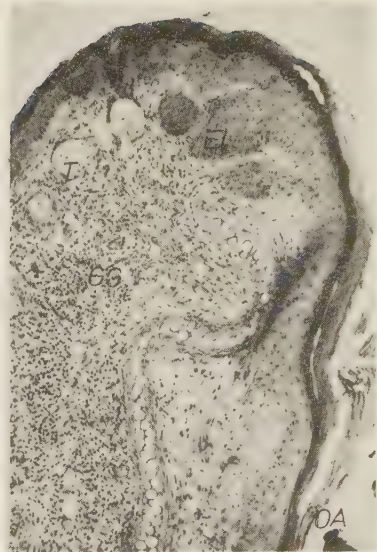


Abb.14: UV-bestrahlter, GPK-c-behandelter Ohrmuschelstumpf. Längsschnitt. 11 Tage n. Bestrahlung. (HE, 72x)



Abb.15: UV-bestrahlter, behan­delter Ohrmuschelstumpf. Längs­schnitt. 19 Tage n. Bestrah­lung. (HE, 72x)



Abb.16: Ausschnitt aus einem UV-bestrahlten, GPK-c-behandelten Ohrmuschelstumpf. Längsschnitt. 23 Tage n. Bestrahlung. (HE, 72x)

XI. Literaturverzeichnis

1. Auslegeschrift des Deutschen Patentamtes
Anmelder : Dr. Madaus & Co., Köln-Merheim
Verfahren zur Gewinnung eines antiinflammato-
risch wirksamen Produktes aus Citrus-Früchten.
2. BABUCKE, J. :
Zur Beeinflussung des Ultra-Violett-Licht-
Erythems der nicht sensibilisierten weißen
Ratte.
Med.Diss.Mainz 1950
3. BACHEM, A. :
Die Lichtdurchdringung der menschlichen Haut.
Strahlentherapie 39 (1931) 30-56
4. BRETT, R. :
Beitrag zur internen Therapie der Lichtderma-
tosen und lichtbeeinflussbaren Krankheiten.
Dtsch.med.Wschr. 23 (1950) 800-804
5. BRILL, F. :
Die Verhinderung von Ohrnekrosen bei mit Hämato-
pyrin gegen Licht sensibilisierten weißen
Mäusen.
Med.Diss. Mainz 1950
6. COOK, M.J. :
The anatomy of the laboratory mouse.
London 1965
7. Histochemical response of human skin following
ultraviolet irradiation.
J.invest.Derm. 37 (1961) 351-357
8. ELLINGER, F. :
Die Lichtempfindlichkeit der menschlichen Haut.
Strahlentherapie 44 (1932) 1-82
9. FRIEDRICH, W. :
Licht und Krebs.
Arch.Geschwulstforsch. 1 (1949) 137-143
10. GÖDAN, R. :
Die Wirkungen eines Glykopeptidkomplexes aus
Citrus-Früchten auf die ultraviolett bedingte
Ohrnekrose der nicht photosensibilisierten
weißen Maus.
Med.Diss. Mainz 1969

11. GREEN, L.E. :
Biology of the laboratory Mouse.
New York 1966
12. HAGEMANN, E. und G. SCHMIDT :
Ratte und Maus.
Berlin 1960
13. HAUSMANN, W. :
Die sensibilisierende Wirkung des Hämatophyrins.
Biochem.Z. 30 (1911) 276-316
14. HAUSSEER, K.W. und W. VAHLE :
Die Abhängigkeit des Lichterythems und der Pigmentbildung von der Schwingungszahl (Wellenlänge) der erregenden Strahlung.
Strahlentherapie 13 (1922) 41-71
15. HOFFMANN, G. :
Kurzer Abriß der Anatomie und Physiologie der Laboratoriumstiere.
Jena 1956
16. KLOUWEN, H.M. und J.G.A. MIGHORST :
Untersuchungen über das Entstehen des Ultraviolett-Erythems.
I. Wird das Erythem durch Histamin verursacht ?
Strahlentherapie 104 (1937) 618-623
17. KNAPP, E., A. REU, O. RISSE und H. SCHREIBER :
Quantitative Analyse der mutationsauslösenden Wirkung monochromatischen Lichtes.
Naturwissenschaften 27 (1939) 309-318
18. MEYER, A.E. und E. SEITZ :
UV-Strahlen. Ihre Erzeugung, Messung und Anwendung in der Medizin, Biologie und Technik.
Berlin 1949
19. MIESCHER, G. :
Das Problem des Lichtschutzes und der Lichtgewöhnung.
Strahlentherapie 35 (1930) 403-443
20. MIESCHER, G. :
Zur Histologie der lichtbedingten Reaktionen.
Strahlentherapie 115 (1957) 345-357
21. MIESCHER, G. und E. HARDMEYER :
Über die Wirkung des weißen und infraroten Lichtes auf die Haut.
Arch.Derm.Syph. (Berl.) 174 (1936) 445-463

- 49 -
22. MONTGOMERY, H. :
Burns and actinodermatitis.
In : H. MONTGOMERY : Dermatopathologie.
New York 1967, 229-258
 23. NAWRATH, H. :
Die letale Photosensibilisierung der weißen Maus
und ihre Beeinflussung durch einen Glykopeptid-
komplex aus Citrusfrüchten. Experimentelle und
histologische Untersuchungen der Organe Leber,
Milz, Niere, Lunge und Herz.
Med.Diss. Mainz 1969
 24. NÜRNBERGER, F. :
Therapeutical effect of a glyco-peptid-complex of
citrus fruit on human photodermatoses and photosen-
sitized animals.
2nd World Congress of the International Society of
Tropical Dermatology, 15-20. August 1969, Kyoto-Japan.-
Dermatologia Internationalis (im Druck).
 25. ROMEIS, B. :
Mikroskopische Technik.
16.Aufl.
München-Wien 1968
 26. ROST, G.A. :
Die biologischen Grundlagen der Ultraviolett-
therapie.
Strahlentherapie 19 (1924) 1-23
 27. ROST, G.A. und Ph.KELLER :
Licht, Röntgen und Radium Elektrotherapie.
Hrsg. v.J. JADASSOHN. Bd. 5/2
Berlin 1929, 1-110
 28. RUMPF, D. :
Die letale Photosensibilisierung der weißen Maus
und ihre Beeinflussung durch einen Glykopeptid-
komplex aus Citrusfrüchten. Experimentelle Unter-
suchungen und chemische Bestimmung des Hämato-
porphyringehaltes der inneren Organe.
Med.Diss. Mainz 1969
 29. SAMS, W.M. und J.G. SMITH :
The Histochemistry of Chronically Sun Damaged
Skin. An Investigation of Mucopolysaccharides
and Basophilia in Actinically Damaged Skin Using
Alcian Blue, Mowry's and Hicks-Matthaei Stains,
Methylation, and Saponification.
J.Invest.Derm. 37 (1961) 447-453

30. SCHREIBER, H. :
Theoretische Gesichtspunkte der UV-Wirkung auf
Organismen.
Strahlentherapie 110 (1959) 179-190
31. SEYFEDDINIPUR, N. :
Vergleichende Erythemschwellenbestimmungen an
lichtgesunden Patienten vor und nach Einnahme
eines Glykopeptidkomplexes aus Citrusfrüchten.
Med.Diss. Mainz 1969
32. VALTONEN, E.J. :
Studies of the mechanism of ultraviolet erythem
formation. III. A method for biological testing
of ultraviolet radiation sources and substances
affecting the degree of erythema; IV. The histamins
content of the skin during the process of ultra-
violet and thermal erythem.
Acta dermatovenereol. (Stockh.) 46 (1966) 292-300,
301-306
33. VEIEL, E. :
Über einen Fall von Eczema solare.
Arch.Derm.Syph. (Wien) 19 (1887) 1113-1116
34. VOGEL, G. und H. STRÜCKER :
Die Wirkung von Pharmaka - insbesondere von
Flavonoiden und Aescin - auf den Lymphfluß und
die Permeabilität der intakten Plasma-Lymph-
Schränke von Ratten für Flüssigkeit und definierte
Makromoleküle.
Arzneimittel-Forsch. 16 (1966) 1630-1634
35. VOGEL, G. und M.L. MAREK :
Rattenpfoten-Ödem durch Polyvinylpyrrolidon und
seine pharmakologische Beeinflussbarkeit.
Arzneimittel-Forsch. 11 (1961) 356-362
36. WATEKA, M. :
Kurzlehrbuch der Histologie und mikroskopischen
Anatomie des Menschen. 3. Aufl.
Stuttgart 1964
37. WETZEL, R. :
Zum Wirkungsspektrum der cancerogenen Eigenschaften
des ultravioletten Lichtes.
Arch.Geschwulstforsch. 14 (1959) 75-80, 120-131
38. WIEDEMANN, M. :
Experimentelle und histologische Untersuchungen zur
Auslösung der letalen Photosensibilisierung an
der weißen Maus und ihre Beeinflussung durch einen
neuen Glyco-Peptid-Komplex (GPK-c) aus Citrusfrüchten.
Med.Diss. Mainz 1969

39. WOLTERS, H. :
Diskussionsbemerkung Eccema solare.
Erg.H.z. Arch.Derm.Syph.(Wien) 24 (1892) 187-193
40. WUCHERPFENNIG, V. :
Biologie und praktische Verwendbarkeit der
Erythemschwelle des UV.
Strahlentherapie 40 (1931) 201-244
41. WÜNSTEL, R. :
Die akute Lichtentzündung an der Rücken-
haut der weißen Maus und ihre Beeinflussung durch einen
Glykopeptidkomplex aus Citrusfrüchten.
Med.Diss. Mainz 1969

Herrn Professor Dr. F. Nürnberger danke ich für die Überlassung des Themas, für die wissenschaftliche Überwachung der Versuche und für seine Hilfe bei der Auswertung der histologischen Präparate.

Herrn Professor Dr. G.W. Korting danke ich für die Erlaubnis, die für meine Arbeit notwendigen Einrichtungen seiner Klinik in Anspruch nehmen zu dürfen.

Frau R. Vinson danke ich für die Einführung in die praktische Histologie.

Herrn G. Faber danke ich für die Herstellung der Photographien der histologischen Präparate.

Lebenslauf

Ich, Josef Heinrich Thomas Maria Metzner, Sohn des Herrn Dr.med. Karl-Hans Metzner, Internist in Mainz, und der Frau Dr.med. Luise Metzner, geb. Graßinger, wissenschaftliche Angestellte bei der Transfusionszentrale der Medizinischen Kliniken der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz, wurde am 19. März 1945 in Heidelberg geboren.

1951-1955 Volksschule in Mainz

1955-1965 Rabanus-Maurus-Gymnasium in Mainz

4. März 1965 Reifeprüfung

SS 1965-Ws 1970 Medizinstudium an der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz

23. Februar 1966 Naturwissenschaftliche Vorprüfung

20. März 1968 Ärztliche Vorprüfung

19. Juli 1968 Eheschließung

7. September 1971 Ärztliche Prüfung

1. Oktober 1971 - 30. September 1972 Medizinalassistent am St.Vincenz- und Elisabeth-Hospital in Mainz

Seit 1. Oktober 1972 Assistenzarzt der Chirurgischen Abteilung des St. Vincenz- und Elisabeth-Hospitals in Mainz.



